

تست رپید کوکائین (نوار تست)

COC Rapid Test (strip)



شماره بروشور HG-DCO-101 REF

مقدمه

این تست جهت تشخیص کیفی کوکائین در ادرار می‌باشد، که تنها برای تشخیص *in vitro* مورد استفاده قرار می‌گیرد.

این تست بر اساس روش ایمنوگروماتوگرافی عمل می‌نماید و حساسیت این تست 300 ng/mL می‌باشد (Cut off: 300 ng/mL).

این تست تنها فراهم کننده یک نتیجه ابتدایی است. یک روش جایگزین با اختصاصیت بیشتر به منظور تایید نتایج اولیه باید مورد استفاده قرار بگیرد که در این خصوص کروماتوگرافی گازی - اسپکترومتری جرمی (GC/MS) روش ارجح است.

خلاصه

کوکائین یک محرک قوی سیستم عصبی مرکزی و بی‌حس‌کننده موضعی می‌باشد. کوکائین به طور بلقوه انرژی و بی‌قراری زیاد را به همراه دارد و همچنین حساسیت بالا و اسپاسم را به همراه مصرف با خود دارد. کوکائین در مقدار زیاد باعث تب، مشکل تنفسی و بیهوشی می‌شود. کوکائین معمولاً از طریق تنفسی و تزریق وریدی مصرف می‌شود. بعد از استفاده در یک مدت کوتاه از طریق ادرار مانند بنزوئیل کوکونین دفع می‌شود. بنزوئیل کوکونین یک متابولیت اصلی کوکائین می‌باشد و طول عمر بیولوژیکی طولانی‌تری نسبت به کوکائین دارد (۵ تا ۸ ساعت) و معمولاً پس از مصرف ظرف ۲۴ تا ۴۸ ساعت قابل ردیابی می‌باشد. تست رپید COC یک تست غربالگری ادرار برای ردیابی سطوح افزایش یافته متابولیت کوکائین در ادرار می‌باشد. نتیجه تست رپید COC زمانی مثبت می‌شود که سطح غلظت متابولیت کوکائین در ادرار به بیش از 300 ng/mL برسد. این غربالگری برای نتایج مثبت ادرار توسط مرکز خدمات درمانی سوء مصرف مواد و سلامت روان ارائه می‌شود.

جمع‌آوری و آماده‌سازی نمونه

+ جمع‌آوری ادرار: نمونه ادرار باید در یک ظرف تمیز و خشک جمع‌آوری گردد، نمونه ادرار در هر زمان از روز می‌تواند جمع‌آوری گردد.

+ نگهداری نمونه: نمونه ادرار می‌تواند در دمای $2-8^{\circ}\text{C}$ برای بیشتر از ۴۸ ساعت نگهداری شود و برای ذخیره طولانی مدت در دمای -20°C فریز گردد. نمونه‌های فریز شده باید قبل از تست، ذوب و ترکیب گردد.

محتویات و لوازم مورد نیاز

مواد موجود در کیت: + بروشور + نوار تست
مواد مورد نیاز که در کیت وجود ندارد: + ظرف جمع‌آوری نمونه + تایمر

راهنمای استفاده

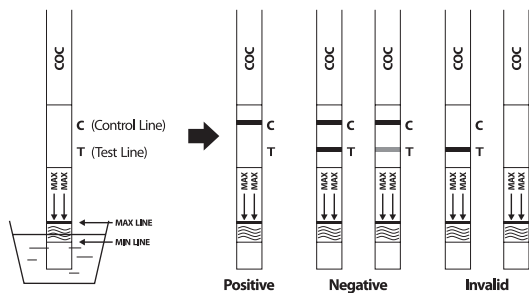
قبل از انجام آزمایش اجازه دهید نوار تست و نمونه ادرار به دمای اتاق برسد ($18-30^{\circ}\text{C}$).

• قبل از باز کردن بسته، اجازه دهید دمای نوار تست به دمای اتاق برسد، نوار تست را از پوشش جدا کرده و حدامکان از آن زود استفاده شود.

• نوار تست را از جهتی که فلش‌ها نشان می‌دهند به طور عمودی تا خط ماکزیمم (MAX) وارد نمونه ادرار کنید و حداقل به مدت ۱۵ - ۱۰ ثانیه نگه دارید. به شکل مراجعه فرمایید.

• نوار تست را در سطح صاف و غیرجاذب قرار دهید، تایمر را روشن کنید و منتظر بمانید تا خط رنگی آشکار شود. نتایج را در عرض ۵ دقیقه تفسیر کنید.

+ نتایج را بعد از ۱۰ دقیقه تفسیر نکنید.



03

تفسیر نتایج

منفی: دو خط آشکار می‌شود یک خط باید در ناحیه کنترل (C) و خط رنگی دیگر در ناحیه تست (T) ظاهر شود. این نتیجه منفی نشان‌دهنده آن است که غلظت کوکائین کمتر از سطح قابل ردیابی (300 ng/mL) می‌باشد.

+ توجه: شدت رنگ در ناحیه تست ممکن است متغیر باشد، ولی آشکار شدن خط رنگی حتی اگر خط کم‌رنگ شکل گرفته باشد به منزله پاسخ منفی می‌باشد.

مثبت: یک خط رنگی در ناحیه کنترل (C) ظاهر شود و هیچ خطی در ناحیه تست (T) مشاهده نشود. پاسخ مثبت نشان‌دهنده غلظت کوکائین بالای سطح قابل ردیابی (300 ng/mL) می‌باشد.

نامعتبر: خط کنترل (C) تشکیل نمی‌شود. حجم ناکافی نمونه یا روش اجرای نادرست آزمایش، شایع‌ترین علل عدم تشکیل خط کنترل (C) می‌باشد. مراحل کار را مجدداً بازبینی نموده و تست را با یک نوار تست جدید تکرار کنید. در صورت عدم رفع مشکل، استفاده از نوار تست را متوقف نمایید و بلافاصله به خدمات پس از فروش اطلاع دهید.

کنترل کیفیت

کنترل روش در تست لحاظ گردیده است و خط رنگی ظاهر شده در ناحیه کنترل (C) به عنوان کنترل داخلی در نظر گرفته شده است که تایید کننده حجم کافی نمونه و روش صحیح اجرا می‌باشد. استانداردهای کنترل همراه این نوار تست نمی‌باشد. انجام تست با کنترل‌های مثبت و منفی در یک آزمایشگاه معتبر برای تایید روش و صحت انجام تست توصیه می‌گردد.

محدودیت

۱. تست رپید کوکائین، فقط نتایج اولیه آنالیتی و کیفی فراهم می‌کند و متد ثانویه آنالیتی دیگری برای تایید نتایج باید به کار گرفته شود. کروماتوگرافی گازی / اسپکترومتری (GC/MS) متد ترجیحی برای تایید نتایج این تست می‌باشد.

۲. احتمال خطا در این روش با تکنیک وجود دارد. همان طور که مواد مداخله کننده در نمونه ادرار ممکن است موجب نتیجه اشتباه گردد.

۳. افزودن موادی مانند سفیدکننده‌ها و یا زاج سفید در نمونه ادرار ممکن است علی‌رغم متد آنالیتی استفاده شده موجب نتیجه اشتباه گردد و اگر این مواد باقی بمانند، تست باید با نمونه ادرار دیگری انجام شود.

04

اساس روش

تست رپید ادرار کوکائین یک روش ایمنوآسی بر پایه اتصال رقابتی می‌باشد. داروهایی که در نمونه ادرار ممکن است یافت شوند با داروهای حاصل از متابولیک کبد برای اتصال به آنتی‌بادی‌ها در رقابت هستند. در طی آزمایش، نمونه ادرار از طریق خاصیت موبینگی به سمت بالا حرکت می‌کند. اگر کوکائین موجود در ادرار زیر 300 ng/mL باشد محل‌های اتصال به آنتی‌بادی پوشیده شده با نانوپارتیکل طلا را پر نمی‌کند. آنتی‌بادی کونژوگ شده به وسیله کوکائین موجود در سطح ممبران جذب خواهد شد و از خود یک خط رنگی در ناحیه خط تست (T) برجای خواهد گذاشت. چنانچه سطح کوکائین بالای 300 ng/mL باشد خط رنگی در ناحیه خط تست (T) ظاهر نخواهد شد زیرا همه محل‌های اتصال آنتی‌بادی‌های کوکائین را اشغال می‌کند. بنابراین اگر وجود کوکائین در نمونه ادرار مثبت باشد خط رنگی در ناحیه خط تست (T) به علت رقابت دارویی تشکیل نخواهد شد در حالی که اگر نمونه ادرار حاوی مقدار کوکائین کمتر از سطح مورد نظر در آزمایش باشد، در این ناحیه یک خط رنگی ظاهر می‌شود. به منظور روند کنترل، همیشه یک خط رنگی در ناحیه خط کنترل (C) آشکار می‌شود که نشان‌دهنده حجم مناسبی از نمونه می‌باشد که به غشا افزوده شده است.

ترکیبات

نوار تست حاوی ذرات متصل به آنتی‌بادی مونوکلونال ضد کوکائین و ترکیب پروتئین - کوکائین کنژوگ شده می‌باشد. آنتی‌بادی ثانویه تهیه شده در گونه بز نیز برای خط کنترل به کار گرفته شده است.

+ احتیاط: تنها برای استفاده تشخیص *in vitro* می‌باشد.

پس از تاریخ انقضاء مصرف نشود. تست تا زمان استفاده باید در بسته‌بندی باقی بماند. تمام نمونه‌ها باید عفونی در نظر گرفته شوند و کلیه اصول ایمنی جهت جابجایی و استفاده از آنها رعایت شود.

نگهداری و پایداری

نوار تست‌های بسته‌بندی شده در دمای اتاق یا یخچال نگهداری شود ($2-30^{\circ}\text{C}$). تست تا زمان تاریخ انقضای درج شده بر روی بسته معتبر می‌باشد. از یخ زدگی محافظت شود.

02

Benzoylcegonine Concentration (ng/mL)	n per site	LOT A		LOT B		LOT C	
		-	+	-	+	-	+
0	10	10	0	10	0	10	0
150	10	10	0	10	0	10	0
225	10	9	1	9	2	9	1
375	10	1	9	2	9	2	9
450	10	0	10	0	10	0	10

اثر کشش مخصوص ادراری

به ۱۵ نمونه ادرار با وزن مخصوص کم، نرمال و بالا، بنزوئیل اگونین با غلظت‌های ۱۵۰ ng/mL و ۴۵۰ ng/mL اضافه شد. سپس نمونه‌های خالص و نمونه‌های با غلظت مشخص بنزوئیل اگونین توسط تست کوکائین بررسی شدند. نتایج بیانگر عدم تاثیرگذاری وزن مخصوص بر نتایج آزمایش است.

اثر pH ادراری

pH نمونه منفی ادرار رقیق شده از رنج ۵ تا ۹ تغییر داده شد و به نمونه‌ها، غلظت‌های ۱۵۰ ng/mL و ۴۵۰ ng/mL از بنزوئیل اگونین اضافه گردید. pH تنظیم شده ادرار با تست رپید کوکائین در تکرار دو تایی (Duplicate) انجام گردید که نتایج نشان دهنده آن است که رنج pH با انجام تست تداخلی ندارد.

تداخل بین واکنشی

مطالعه‌ای جهت بررسی تداخلات با نمونه‌های مثبت و منفی بنزوئیل اگونین انجام شد. ترکیبات زیر هیچ تداخل واکنشی با نتایج تست کوکائین در غلظت ۱۰۰ µg/mL را نشان نداد.

0.3	Diazepam	Methadone	Prednisone
Acetophenetidin	Diclofenac	Methoxyphenamine	Procaine
N-Acetylprocainamide	Diffunisal	(±)-3,4-Methylenedioxy-amphetamine	Promazine
Acetylsalicylic acid	Digoxin	amphetamine	Promethazine
Aminopyrine	Diphenhydramine	(±)-3,4-Methylenedioxy-methamphetamine	D,L-Propanolol
Amityryptiline	Doxylamine	methamphetamine	D-Propoxyphene
Amobarbital	Ecgonine methylester	Morphine-3-β-D	D-Pseudoephedrine
Amoxicillin	(-)ψ-Ephedrine	glucuronide	Quinidine
Ampicillin	Erythromycin	Morphine Sulfate	Quinine
L-Ascorbic acid	β-Estradiol	Nalidixic acid	Ranitidine
D,L-Amphetamine sulfate	Estrone-3-sulfate	Naloxone	Salicylic acid
Apomorphine	Ethyl-p-aminobenzoate	Naltrexone	Secobarbital
Aspartame	Fenoprofen	Naproxen	Serotonin
Atropine	Furosemide	Niacinamide	Sulfamethazine

07

۴. یک نتیجه مثبت نشان‌دهنده وجود مواد یا متابولیت‌های آن می‌باشد. یک نتیجه منفی ممکن است الزاما نشان‌دهنده عدم وجود مواد در ادرار نباشد. ممکن است سطح دارو کمتر از سطح قابل ردیابی توسط تست باشد.

۵. تست، توانایی تشخیص سوءمصرف از موارد معین درمانی را ندارد.

+ مقادیر مورد انتظار: اگر غلظت کوکائین کمتر از ۳۰۰ ng/mL باشد، نتیجه منفی خواهد شد و اگر غلظت آن بیشتر از ۳۰۰ ng/mL باشد، نتیجه مثبت خواهد بود. تست کوکائین دارای Cut off: 300 ng/mL می‌باشد.

ویژگی اجرایی

صحت: نتایج بدست آمده از نوار تست کوکائین هائزن با نتایج بدست آمده از کیت دیگر تجاری در دسترس، مقایسه شد. در مطالعه بر روی ۱۰۰ نمونه ادرار، شامل ۴۰ نمونه مثبت و ۶۰ نمونه منفی، کیت هائزن ۴۰ نمونه را مثبت و ۶۰ نمونه را منفی شناسایی کرد. نتایج بدست آمده در جدول زیر ارائه شده است.

Method		other COC Rapid Test		Total Result
The COC Rapid Test Dipstick	Results	Positive	Negative	
	Positive	40	0	40
	Negative	0	60	60
Total Result		40	60	100
Sensitivity: > 99% (91.1 % ~ 100%)		Specificity: > 99.0% (94.0% ~ 100.0%)		
Accuracy: 99.0% (96.3% ~ 100.0%)		95% Confidence Intervals		

به منظور مقایسه نتایج کیت تشخیص سریع کوکائین هائزن با روش (GC/MS)، ۲۵۰ نمونه کلینیکی (۱۱۳ نمونه مثبت و ۱۳۷ نمونه منفی) جمع‌آوری شد، که کیت هائزن ۱۱۱ نمونه را مثبت و ۱۳۴ نمونه را منفی شناسایی کرد. نتایج بدست آمده در جدول زیر ارائه شده است.

Method		GC/MS		Total Result
The COC Rapid Test Dipstick	Results	Positive	Negative	
	Positive	111	3	114
	Negative	2	134	136
Total Result		113	137	250
Sensitivity: 98.2% (93.7 % ~ 99.7%)			Specificity: 97.8% (93.7% ~ 99.5%)	
Accuracy: 98.0% (95.3% ~ 99.3%)			95% Confidence Intervals	

05

حساسیت آنالیتیکی: حجمی از نمونه‌های ادراری فاقد دارو در غلظت‌های زیر از بنزوئیل اگونین تهیه گردید.

۰ ng/mL و ۱۵۰ ng/mL و ۲۲۵ ng/mL و ۳۰۰ ng/mL و ۳۷۵ ng/mL و ۴۵۰ ng/mL و ۹۰۰ ng/mL. نتایج، صحت بالاتر از ۹۹ درصد را در ۵۰ درصد نمونه‌ها با غلظت بالاتر از حد Cut-off و ۵۰ درصد با غلظت پایین‌تر از Cut-off را نشان دادند.

Benzoylcegonine Concentration (ng/mL)	Percent of Cut-off	n	Visual Result	
			Negative	Positive
0	0	30	30	0
150	-50%	30	30	0
225	-25%	30	26	4
300	Cut-off	30	13	17
375	+25%	30	3	27
450	+50%	30	0	30
900	3X	30	0	30

ویژگی آنالیتیکی: جدول زیر ترکیباتی که به صورت مثبت در نمونه ادرار در مدت زمان ۵ دقیقه توسط نوار تست کوکائین شناسایی شدند را نشان می‌دهد.

Compound	Concentration (ng/mL)	Compound	Concentration (ng/mL)
Benzoylcegonine	300	Cocaethylene	12,500
Cocaine HCl	200	Ecgonine HCl	30,000

دقت

مطالعه‌ای در سه مرکز مختلف توسط افراد آموزش ندیده با استفاده از سه لات مختلف محصول جهت ارزیابی دقت داخل مرحله‌ای، بین مرحله‌ای و بین فردی انجام گردید.

یک پزل از نمونه‌های کدگذاری شده حاوی غلظت بنزوئیل اگونین معین بر اساس روش (GC/MS) در حد ۲۵۰ ng/mL و ۲۵ درصد بالا و پایین حد مینیمم تشخیص و ۵۰ درصد بالا و پایین حد مینیمم تشخیص ۳۰۰ ng/mL در هر مرکز استفاده شد.

06

Benzilic acid	Gentisic acid	Nifedipine	Sulindac
Benzoic acid	Hemoglobin	Norcodeine	Temazepam
Benzphetamine	Hydralazine	Norethindrone	Tetracycline
Bilirubin	Hydrochlorothiazide	D-Norpropoxyphene	Tetrahydrocortisone,
(±)-Brompheniramine	Hydrocodone	Noscapine	3-Acetate
Caffeine	Hydrocortisone	D,L-Octopamine	Tetrahydrocortisone
Cannabidiol	O-Hydroxyhippuric acid	Oxalic acid	3-(β-D glucuronide)
Cannabinol	p-Hydroxy-	Oxazepam	Tetrahydrozoline
Chloralhydrate	methamphetamine	Oxolinic acid	Thebaine
Chloramphenicol	3-Hydroxytyramine	Oxycodone	Thiamine
Chlordiazepoxide	Ibuprofen	Oxymetazoline	Thioridazine
Chlorothiazide	Imipramine	Papaverine	D,L-Tyrosine
(±)-Chlorpheniramine	Iproniazid	Penicillin-G	Tolbutamide
Chlorpromazine	(±) - Isoproterenol	Pentobarbital	Triamterene
Chlorquine	Isoxsuprine	Perphenazine	Trifluoperazine
Cholesterol	Ketamine	Phencyclidine	Trimethoprim
Clomipramine	Ketoprofen	Phenelzine	Trimipramine
Clonidine	Labetalol	Phenobarbital	Tryptamine
Codeine	Levorphanol	Phentermine	D,L-Tryptophan
Cortisone	Loperamide	L-Phenylephrine	Tyramine
(-) Cotinine	Maprotiline	β-Phenylethylamine	Uric acid
Creatinine	Meperidine	Phenylpropanolamine	Verapamil
Deoxycorticosterone	Meprobamate	Prednisolone	Zomepirac
Dextromethorphan			

منابع

- Stewart DI, T Inoba, M Ducassen, W Kalow. Clin. Pharmacol. Ther. 1979; 25:264
- Ambre J. J. Anal. Toxicol. 1985; 9:241
- Baselt RC. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man. 2nd Ed. Biomedical Publ., Davis, CA. 1982: 488
- Hawks RL, CN Chiang. Urine Testing for Drugs of Abuse. National Institute for Drug Abuse (NIDA), Research Monograph 73, 1986



کارخانه: کیلومتر ۵ آزادراه کرج - قزوین، شهرک صنعتی بهارستان، خیابان گلستان پنجم، پلاک ۱۱۹

تلفن: ۰۲۶ ۳۶۱۸ ۱۰۰۰

خدمات پس از فروش: ۰۲۶ ۳۲۱ ۰۹۹۳

ایمیل: info@hanagene.com

www.hanagene.com